

ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ ALCOOL DÉSHYDROGÉNASE CHEZ LES PLEUROTÉS DES OMBELLIFÈRES

I — ÉTUDE QUALITATIVE.¹

par Prosper BALOUNGA*

RÉSUMÉ. — L'étude de l'activité alcool déshydrogénase chez les Pleurotes des Ombellifères, après électrophorèse en gel de polyacrylamide, montre l'existence de deux types de bandes : bandes précoces et bandes de maturité. Ces bandes pourraient constituer une base de marqueurs enzymatiques pour les thalles végétatifs ou agrégés du *Pleurotus eryngii*, tout en définissant leurs cycles de croissance.

SUMMARY. — Electrophoresis on polyacrylamide gels, followed by a detection of alcohol dehydrogenase activity, have been performed on *Pleurotus* growing on Umbellifers. Two kinds of bands were found : precocious and maturity bands. These bands are discussed as possible enzymatic markers for vegetative or aggregated thalli from *Pleurotus eryngii*.

MOTS CLÉS : *Pleurotus eryngii*, Basidiomycètes, électrophorèses, alcool déshydrogénase.

INTRODUCTION

De multiples formes d'alcool déshydrogénase (A.D.H.) ont été observées et étudiées chez les levures (RACKER, 1950; EBISUZAKI & BARRON, 1957; LUSTORF & MEGNET, 1968; SCHIMPFESSEL, 1968; FOWLER & al., 1972; ELTAYEB & BERRY, 1977, 1982; WILLIAMSON & al., 1980; WILLS & al., 1980) et chez diverses plantes : blé, maïs, tournesol, mil, etc. (SCHWARTZ & ENDO, 1966; SCANDALIOS, 1967; HART, 1969; LEBLOVA & al., 1971; GOTTLIEB, 1974) et le système enzymatique de l'A.D.H. a été particulièrement étudié chez une mouche : *Drosophila melanogaster* (GRELL & al., 1965; URSPRUNG & al., 1970; JOHNSON & DENNISTON, 1974; DAVID, 1977, 1978).

1. Ce travail fait partie d'une thèse de 3ème cycle préparée au Laboratoire du G.P.D.P., C.N.R.S. à Gif s/ Yvette et au Laboratoire de Cryptogamie, M.N.H.N. à Paris, soutenue le 16 Février 1984 à l'Université Pierre et Marie Curie, Paris 6.

* Université Marien NGOUABI, B.P. 69, Brazzaville, République populaire du Congo.

CRYPTOGAMIE, MYCOLOGIE (*Cryptogamie, Mycol.*) TOME 6 (1985).

Il n'en est pas de même chez les champignons filamenteux où peu de travaux ont été réalisés.

La fréquence avec laquelle l'éthanol est cité parmi les métabolites rejetés au cours de la croissance mycélienne et susceptibles d'être réutilisés lors de l'épuisement du milieu, les divers travaux suggérant un lien entre changements de voies métaboliques et conidiogénèse chez des formes imparfaites telles que : *Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophytes* ou *Fusarium oxysporum* (c. f. AINSWORTH & SUSSMAN, 1966), et l'hypothèse de TURIAN (1975) selon laquelle il pourrait y avoir intervention d'un changement métabolique (phase fermentative vers phase oxydative) dans l'induction de la sporulation chez l'Ascomycète *Neurospora*, ont conduit, mais sans arguments substantiels, à admettre un lien entre phase sporulante et aptitude à utiliser l'éthanol. L'activité A.D.H., au moins chez les Ascomycètes, pourrait alors être une activité inductible et son induction deviendrait un des facteurs possibles du passage à la phase sporulante.

Dans le cas des Basidiomycètes supérieurs, aucun travail n'a été publié. En laboratoire, après électrophorèse, l'activité A.D.H. n'a pas été décelée sur le mycélium de *Pleurotus eryngii* récolté à quatre semaines, contrairement aux extraits obtenus à partir de basidiocarpes (BOISSELIER-DUBAYLE, 1981). Ces résultats sont à rapprocher des précédentes conclusions et de leur généralisation. On peut alors penser à une apparition de l'activité A.D.H. au seul moment du processus d'agrégation. Il était intéressant de vérifier, chez le Pleurote, si l'activité A.D.H. est réellement absente dans le mycélium jeune, et de suivre son évolution. L'activité A.D.H. est recherchée après électrophorèse d'extraits de protéines solubles obtenues à partir de mycéliums ou de basidiocarpes récoltés en laboratoire (BALOUNGA, 1984). L'évolution des différents zymogrammes obtenus en fonction du temps de croissance, du volume de milieu de culture, est suivie sur différentes souches homocaryotiques et dicaryotiques, en phase végétative, et comparée aux zymogrammes obtenus en phase agrégée.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel :

Des souches originaires de différentes régions ont été utilisées (CAILLEUX & al., 1980, 1981; SLEZEC, 1981) :

– 1336 : dicaryon issu d'un semi plurispores provenant d'un basidiocarpe récolté près de Millau (vallée du Tarn, France).

– 618, 622, 623 : homocaryons issus du dicaryon précédent; l'homocaryon 623 exprime un comportement normal, les deux autres sont porteurs de facteurs d'anomalies : les dicaryons possédant un noyau 622 restent stériles, ceux possédant un noyau 618 produisent des primordiums abortifs (CAILLEUX & al., 1980).

– 673, 675 : homocaryons issus d'un dicaryon récolté à Montrichard (bords du Cher, France); 675 exprime un comportement normal, 673 a une croissance réduite. Ce facteur ne s'exprime pas chez les dicaryons possédant un noyau 673 : leur croissance est normale et ils sont fructifères.

– 905 : homocaryon issu d'un dicaryon récolté en Iran. Cet homocaryon est porteur d'un facteur de type Fi^+ : il forme des primordiums homocaryotiques.

– 673x675, 622x623, 675x623, 675x622 : dicaryons reconstitués à partir des homocaryons compatibles précédents.

Seuls les dicaryons 1336, 673x675, 675x623 produisent des carpophores normaux et fertiles, au laboratoire, selon les méthodes préconisées par CAILLEUX & DIOP (1976, 1978).

Culture, extraction, électrophorèse :

Pour la production de mycélium, nous avons utilisé le milieu gélosé (ODDOUX (1955) et le milieu minéral liquide décrit par MACAYA-LIZANO (1975), modifié par SLEZEC (1978) et BOISSELIÉ-DUBAYLE (1981).

Pour l'extraction des protéines, nous avons appliqué les conditions utilisées pour le mil par SANDMEIER (Laboratoire G.P.D.P., C.N.R.S., Gif s/Yvette), dérivées des travaux de FREELING (1973), avec 0,5 ml de tampon pour 50 mg de poids frais de mycélium. Le broyat obtenu après l'extraction est centrifugé à 45 000 x g pendant 20 mn, et le surnageant est utilisé le jour même.

Pour l'électrophorèse, nous avons utilisé la technique discontinue et la méthode de gel à 7,5 % de polyacrylamide, en tube de verre, sous un courant de moins de 3 mA par tube. La migration se déroule en tampon tris-glycine pH 8,3 (tris 0,6 g/l; glycine 2,88 g/l). La révélation se fait par mesure de la réduction du Nicotinamide Adénine Dinucléotide (N.A.D.) en présence d'éthanol (tris-HCl 0,5M pH 8,5 : 20 ml; éthanol absolu : 1 ml; $MgCl_2$ 0,4M : 2 ml; N.A.D. : 0,03 mM; Nitro Bleu de Tétrazolium : 0,2 mM; Phénazine Métho Sulfate : 0,006 mM; H_2O : 80 ml). Les gels immergés dans la solution sont mis à incuber à 37°C pendant 30 à 60 mn.

RÉSULTATS

1) Évolution de l'activité au cours de la croissance mycélienne.

Les analyses ont été effectuées sur les souches homocaryotiques 673, 675, 618, 622, 623, 905 et la souche dicaryotique 673x675, à différents âges, définissant ainsi des « temps de végétation mycélienne » (1, 1 1/2, 2, 2 1/2, 3, 3 1/2 semaines). Les souches sontensemencées sur boîtes de Roux contenant 100 ml de milieu minéral liquide.

– Après une semaine de croissance mycélienne, nous avons identifié trois

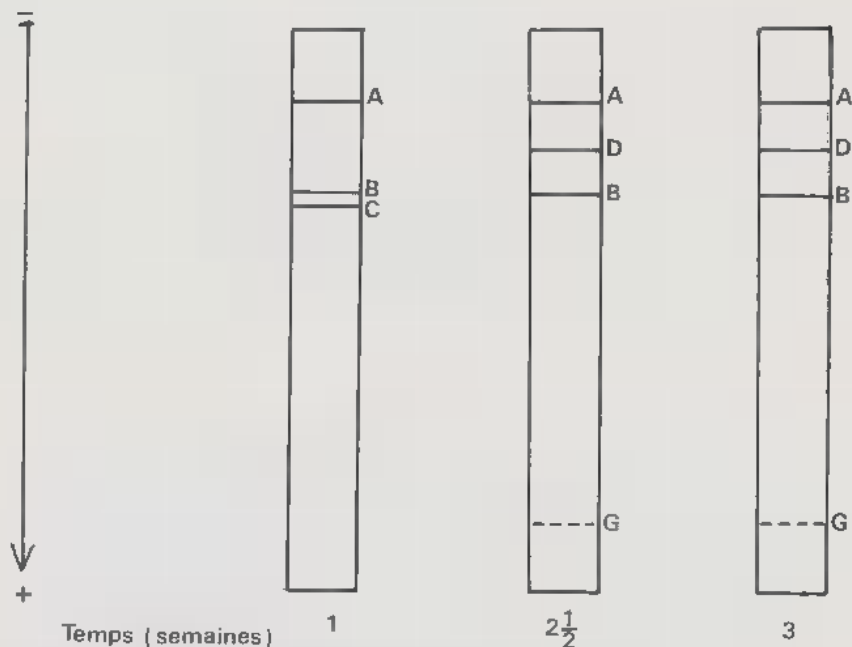


Figure 1 : Relevé des profils électrophorétiques d'activité A.D.H. du dicaryon 673x675, en fonction du temps de croissance (---- bande inconstante).

Figure 1 : Drawings of A.D.H. electrophoretic patterns for the dikaryon 673x675, after 1, 2 1/2 and 3 weeks of growth (---- inconstant band).

bandes chez le dicaryon 673x675 : une bande A de faible migration et deux bandes B et C de plus fortes migrations (Fig. 1). Toutes les souches homocaryotiques analysées n'en présentent qu'une seule : la bande B.

— Après une semaine et demie de croissance mycélienne, on note l'apparition des bandes A et C chez les homocaryons 673, 675, 618, 623 et 905. Les souches homocaryotiques et dicaryotiques présentent donc les mêmes bandes (A, B, C) à l'exception de l'homocaryon 622 qui révèle uniquement les bandes A et B.

— Après deux semaines de croissance mycélienne, il n'apparaît généralement aucun changement de profil, par rapport au stade précédent.

— Après deux semaines et demie de croissance mycélienne, on observe chez le dicaryon 673x675 la disparition de la bande C et l'apparition d'une nouvelle bande D, de migration intermédiaire entre A et B (Photo A, Fig. 1). Il convient de noter en outre qu'une bande G, de forte migration et très inconstante, peut être mise en évidence à partir de ce stade et que l'apparition de la bande D et la disparition de la bande C sont parfois visibles à deux semaines.

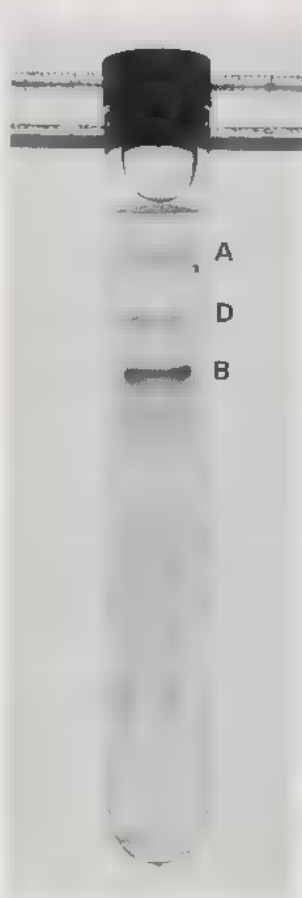


Photo A : Profil électrophorétique d'activité A.D.H. du dikaryon 673x675, à 2 1/2 semaines de croissance.

Photo A : A.D.H. electrophoretic pattern for the dikaryon 673x675 (2 1/2 weeks).

Quant aux homocaryons, y compris 622, leurs zymogrammes ne présentent aucune modification. Chez l'homocaryon 905 qui, à ce stade, développe des primordiums dans le milieu de culture, les révélations effectuées sur extrait de primordium sont identiques à celles obtenues sur mycélium.

— Après trois semaines de croissance mycélienne, toutes les souches se comportent comme au stade précédent (Fig. 1).

— Après trois semaines et demie de croissance mycélienne il en est de même. On note néanmoins une diminution de la coloration des bandes A et C, voire leur disparition quasi-totale. La bande D de la souche 673x675 tend aussi à disparaître.

Au cours de leur croissance mycélienne, et quelle qu'en soit la provenance, les homocaryons expriment donc une bande B dès l'âge d'une semaine, puis les

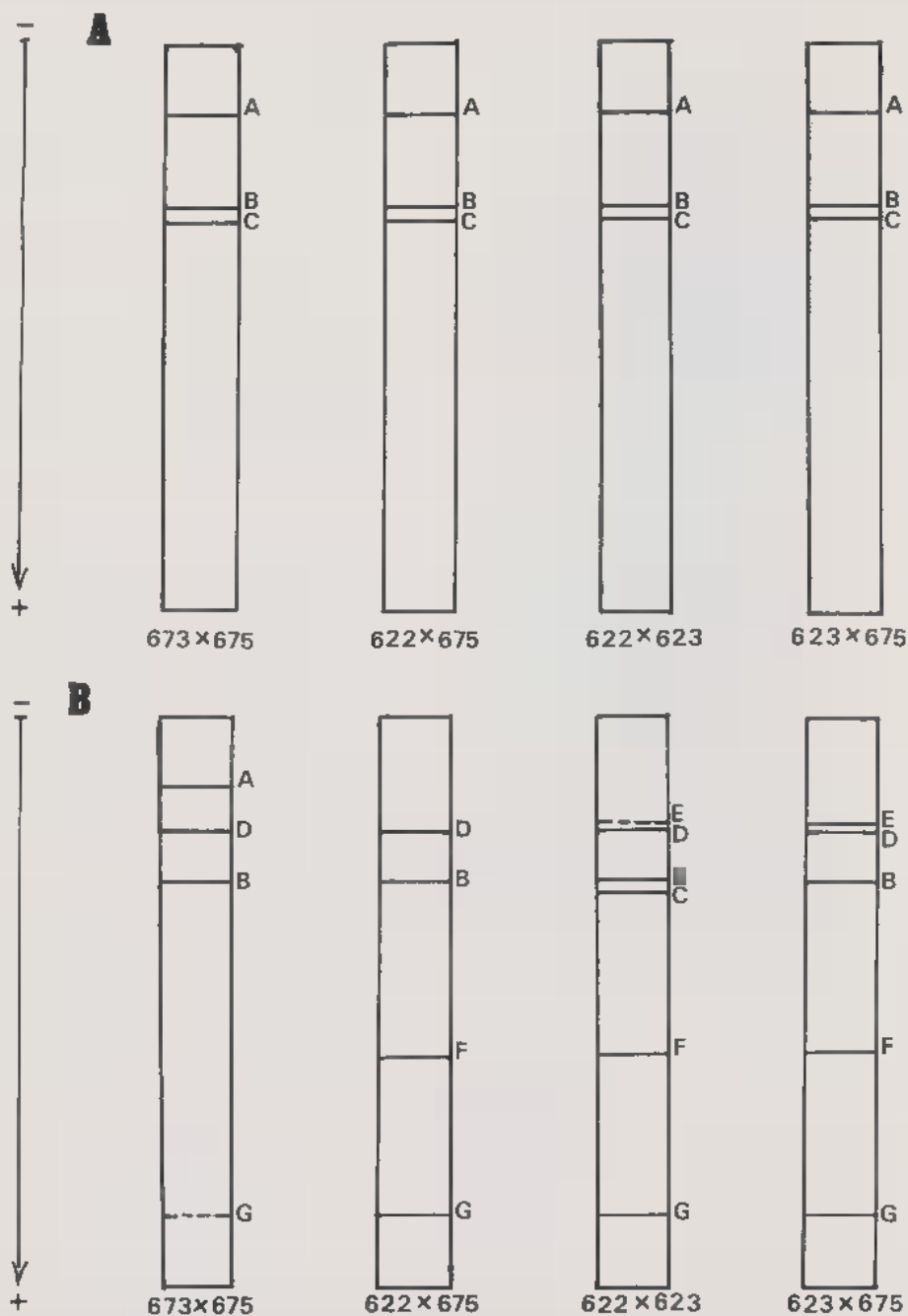


Figure 2 : Relevé des profils électrophorétiques d'activité A.D.H. de quatre dicaryons, à 1 1/2 (A) et 2 1/2 (B) semaines de croissance (---- bande inconstante).

Figure 2 : Drawings of A.D.H. electrophoretic patterns for four dikaryons, after 1 1/2 (A) and 2 1/2 (B) weeks for growth (---- inconstant band).

bandes A et C. Il n'y a pas de modification ultérieure des zymogrammes, si ce n'est une diminution progressive de l'intensité des bandes A et C à partir de trois semaines et demie et la disparition quasi-totale de l'activité A.D.H. vers quatre semaines. Il faut noter qu'on ne relève pas de différences entre les homocaryons à comportement biologique normal et ceux qui sont porteurs d'anomalies. Seul, l'homocaryon 622, exprimant une tendance à former des boucles à l'état homocaryotique et porteur d'un facteur de stérilité chez les dicaryons auxquels il participe, se singularise en n'exprimant jamais la bande C.

Le dicaryon, pour sa part, exprime les trois bandes A, B et C dès le plus jeune âge analysable (1 semaine) mais, à deux semaines et demie, la bande C disparaît alors qu'apparaissent deux nouvelles bandes : D et, au moins dans certains cas, G. Comme chez les homocaryons, toute activité A.D.H. disparaît aux alentours de quatre semaines, ce qui explique l'absence de détection dans les essais réalisés par BOISSELIER-DUBAYLE (1981).

2) Influence du milieu de culture.

Ces premiers résultats nous ont amené à aborder le problème du déterminisme de l'apparition des bandes D et G chez le dicaryon. L'hypothèse d'un déterminisme externe, lié aux modifications du milieu de culture au cours de la croissance, avec réduction de la concentration en éléments nutritifs et accroissement de celle des substances rejetées par le champignon, est éprouvée en faisant varier le volume de milieu de culture, sans en modifier les concentrations initiales : une augmentation du volume, en ralentissant les vitesses de variation des concentrations, devrait faire reculer dans le temps l'apparition des bandes D et G, et inversement.

Cette étude a été réalisée avec le dicaryon 673x675, en utilisant des volumes de milieux de culture de 50, 100, 150 et 200 ml. Les analyses ont été effectuées après 1, 2 1/2 et 3 semaines de culture.

Aucune modification des zymogrammes n'est observée, pour un même temps de végétation mycélienne, sur des volumes de milieu différents. L'apparition des bandes D et G et la disparition de la bande C chez la souche 673x675 semblent donc bien liées à l'âge de la culture et non au volume de milieu, au moins pour le milieu de culture utilisé. Il n'est alors pas exclu que ce comportement ressorte de phénomènes d'ordres physiologique ou génétique, c'est-à-dire d'un déterminisme interne. Dans ce cas, en tenant compte de toutes ces observations expérimentales, l'évolution des activités A.D.H. pourrait constituer un marqueur de maturation physiologique.

3) Étude de différentes souches dicaryotiques

Le comportement de la souche 673x675 nous a incité à vérifier l'évolution des profils chez d'autres souches dicaryotiques. Les analyses ont été menées après 1 1/2 et 2 1/2 semaines de culture pour les dicaryons : 673x675, 622x675, 622x623, 623x675.

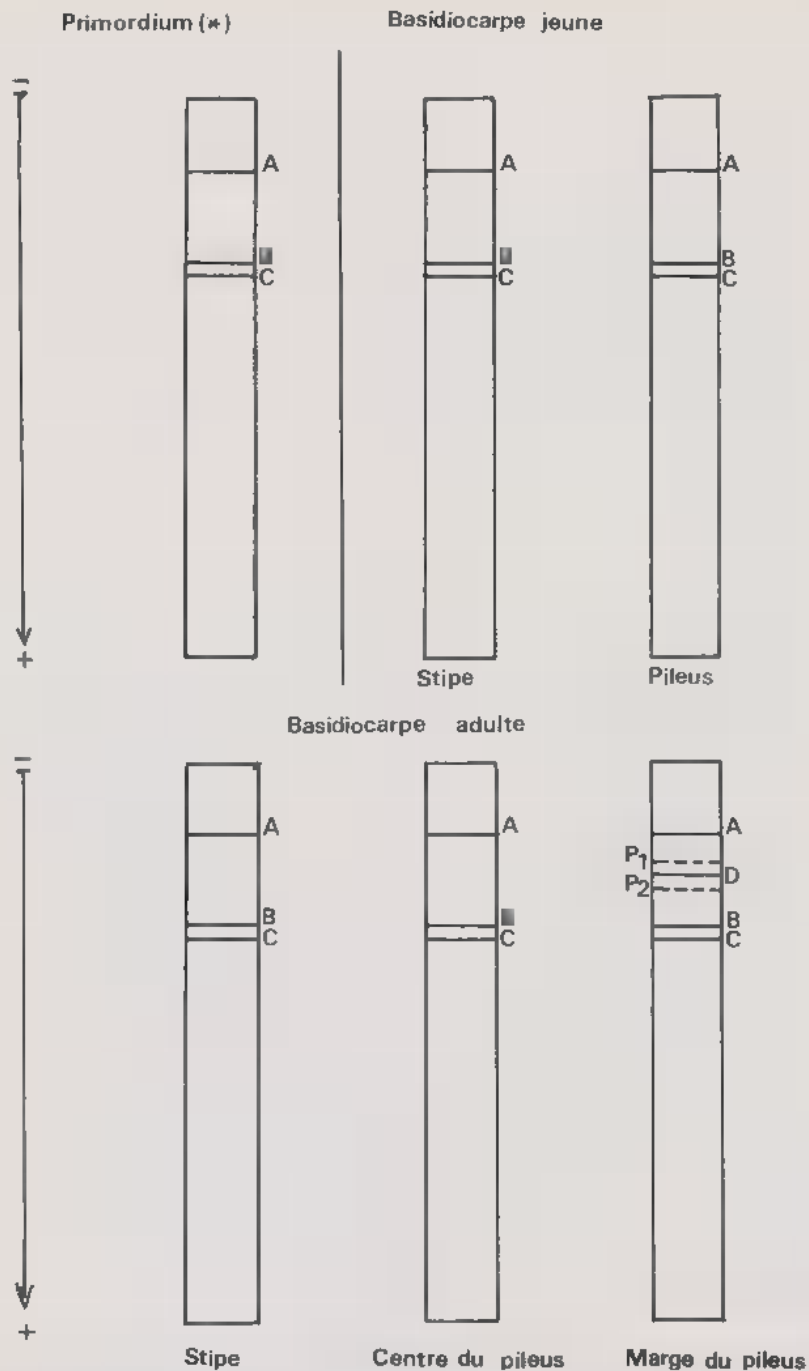


Figure 3 : Relevé des profils électrophorétiques d'activité A.D.H. de basidiocarps 673 x 675 et 1336 (* 905).

Figure 3 : Drawings of A.D.H. electrophoretic patterns for 673x675 and 1336 basidiocarps (* 905).

Les résultats récapitulés sur la Figure 2 montrent que :

- A une semaine et demie, toutes les souches présentent les mêmes bandes A, B et C.
- A deux semaines et demie, on note pour toutes les souches une disparition de bandes et l'apparition de nouvelles bandes.
 - 673x675 : disparition de la bande C, apparition des bandes D et G (inconstante).
 - 622x675 : disparition des bandes A et C, apparition des bandes D, F et G.
 - 623x675 : disparition des bandes A et C, apparition des bandes D, E, F et G.
 - 622x623 : disparition de la seule bande A, apparition des bandes D, E (inconstante), F et G.

Après une semaine et demie de croissance mycélienne, les dicaryons analysés présentent donc uniquement et uniformément les bandes de leurs homocaryons constitutifs. On remarque que les deux dicaryons qui possèdent le noyau 622 expriment normalement la bande C que n'exprime pas l'homocaryon 622. Si cette non-expression de la bande C est une déficience de 622, elle serait complétée, chez les dicaryons, par l'autre noyau, 675 ou 623.

Après deux semaines et demie de croissance mycélienne, on note : la disparition de la bande C s'il y a présence du noyau 675 (Montrichard), l'apparition de la bande F et la disparition de A lors de la présence des noyaux 622 ou 623 (Millau), l'apparition de la bande E en présence du noyau 623.

La bande B s'exprime tout au long de la croissance des dicaryons. Lorsque la culture est jeune, se superposent à B les bandes A et C que l'on peut qualifier de «bandes précoces», le profil étant alors identique à celui observé chez les homocaryons (sauf 622), tout au long de leur croissance. Chez les dicaryons, à deux semaines et demie apparaissent d'autres bandes, les «bandes de maturité», parmi lesquelles D et G s'expriment chez les quatre dicaryons analysés; leur apparition n'est toutefois pas nécessairement couplée à la disparition de la bande précoce C, comme l'étude précédente pouvait le laisser supposer. Les deux autres bandes de maturité (E et F) n'apparaissent qu'en présence de noyaux de Millau. Ainsi, si les bandes précoces des dicaryons apparaissent être identiques et aussi peu variables que les bandes homocaryotiques, il existe au niveau de leur disparition, et au niveau de l'apparition simultanée des bandes de maturité, une certaine variabilité qui n'est peut-être pas sans rapport avec l'origine des deux noyaux constitutifs du dicaryon.

4) Étude des formes agrégées

L'apparition des bandes de maturité semblant être indépendante des facteurs nutritifs, nous avons essayé de savoir si une telle expression se rencontre au niveau des formes agrégées. La mise en évidence de l'A.D.H. ■ été réalisée sur des basidiocarpes obtenus à partir des dicaryons 673x675 et 1336, au labora-

toire de Cryptogamie du Muséum National d'Histoire Naturelle. Cette détection a été effectuée à deux stades différents : le basidiocarpe jeune (basidiocarpe de 3 jours) et le basidiocarpe adulte (de 23 jours). Une étude détaillée a été réalisée en fractionnant le basidiocarpe en : stipe et piléus chez le jeune; stipe, centre du piléus et marge du piléus chez l'adulte. En outre, nous avons analysé des primordiums entiers de l'homocaryon 905.

Les résultats obtenus sont récapitulés sur la Figure 3. Les zymogrammes du stipe et du piléus des jeunes basidiocarpes présentent les bandes précoces A, B et C, toujours identiques aux bandes homocaryotiques. Il en est de même pour le primordium homocaryotique 905.

Les zymogrammes obtenus à partir du stipe et du centre du piléus des basidiocarpes adultes sont identiques : ils présentent les bandes A, B et C, tandis que la marge du piléus révèle, en plus des bandes A, B et C, la bande D et deux autres bandes situées de part et d'autre de celle-ci, dénommées P1 et P2.

On remarque que les bandes G et F n'ont pas été décelées, en particulier chez 1336 dont sont issus les homocaryons 622 et 623. En ce qui concerne la bande E, elle pourrait correspondre à la bande P1, leur migration est équivalente. Enfin, on remarque que la bande C persiste dans le basidiocarpe adulte, même au niveau de la marge du piléus qui exprime des bandes de maturité.

DISCUSSION

Notre étude montre l'existence, chez *Pleurotus eryngii*, de deux types de profils électrophorétiques d'activité A.D.H. :

— Un profil de «bandes précoces» (A, B, C), uniforme chez tous les mycéliums jeunes, qu'ils soient homocaryotiques, dicaryotiques végétatifs ou agrégés. Seul l'homocaryon 622 n'exprime pas la bande C, mais il peut s'agir d'un simple caractère individuel de cet homocaryon qui présente par ailleurs d'autres déficiences. Ce profil de bandes précoces persiste inchangé jusqu'à la disparition de toute activité chez les homocaryons, et jusqu'à l'état d'hyphes âgées dans la chair du stipe et du centre du piléus des basidiocarpes.

— Des profils de «bandes de maturité» qui apparaissent après deux semaines et demie de croissance chez le mycélium dicaryotique végétatif. Certaines bandes se retrouvent chez les quatre dicaryons analysés (D, G), les autres (E, F) semblent propres à certains d'entre eux. L'apparition de ces bandes est contemporaine de la disparition des bandes précoces A ou C, selon les dicaryons analysés. La bande A disparaît dans le cas de la présence d'au moins un noyau de Millau (622, 623) ou en l'absence du noyau 673 de Montrichard. La bande C disparaît dans le cas de la présence de l'un au moins des noyaux de Montrichard.

Par contre, au niveau des dicaryons agrégés, les deux bandes A et C s'expriment au niveau de la marge du piléus de basidiocarpes adultes, alors qu'apparaît la bande D.

Il est intéressant de confronter ces résultats aux caractéristiques de la croissance végétative du mycélium et à celle du développement basidiocarpique. On sait que la partie active d'un thalle en croissance est constituée par les apex hyphaux, mais que les zones plus âgées participent également à la croissance, comme le montre l'important flux cytoplasmique qui se dirige vers les apex. Un thalle jeune est donc essentiellement constitué d'apex actifs, la proportion de mycélium âgé croissant ensuite progressivement à mesure que le thalle se développe. Les extractions étant réalisées sur la totalité des thalles végétatifs, on pourrait penser à un lien entre cette proportion croissante de mycélium âgé et l'apparition des bandes de maturité à deux semaines et demie. Dans cette hypothèse, les bandes précoces pourraient être propres au cytoplasme apical, siège de la croissance, les bandes de maturité plutôt caractéristiques du cytoplasme âgé des zones plus anciennes.

Une telle interprétation se heurte à deux objections. En premier lieu, les modalités de la croissance des thalles haploïdes étant identiques à celles des thalles dicaryotiques, il faudrait admettre que leur cytoplasme âgé n'exprime pas de bandes de maturité. Ce premier argument négatif n'est toutefois pas décisif car on sait que l'état caryologique des Basidiomycètes peut intervenir dans l'expression ou la non-expression de certaines potentialités : formation des anses d'anatomoses ou aptitude à la croissance agrégée, par exemple. Il pourrait en être de même pour l'expression des bandes de maturité. La seconde objection, plus convaincante, est la disparition de certaines bandes précoces lors de la manifestation des bandes de maturité chez le thalle végétatif, alors qu'elles persistent dans les tissus de la marge du basidiocarpe. En effet, si les thalles végétatifs, à cet âge, peuvent montrer une proportion non négligeable de mycélium âgé exprimant alors les bandes de maturité, il comporte encore à sa périphérie de nombreux apex actifs qui, dans notre hypothèse, devraient exprimer la totalité des bandes précoces; manifestement, ils ne le font pas.

La confrontation de nos résultats avec les processus de croissance basidiocarpique accroît considérablement le poids de cette seconde objection. Pour édifier le basidiocarpe, les hyphes du *P. eryngii* s'agrègent parallèlement, constituant d'abord le stipe; puis l'ébauche du piléus se forme, séparée du sommet du stipe par une constriction annulaire. Le développement ultérieur du piléus se fait enfin par prolifération des hyphes de la marge. Les extraits réalisés, chez les basidiocarpes adultes, à partir de la chair du stipe et du centre du piléus sont donc représentatifs d'hyphes ayant achevé depuis longtemps leur croissance, mais ils n'expriment que les bandes précoces; au contraire, ceux réalisés à partir des tissus de la marge piléique dont la croissance n'est pas encore tout à fait terminée expriment les bandes tardives.

On ne peut donc pas retenir l'hypothèse d'une différence, au niveau des bandes d'activité A.D.H., entre les deux parties majeures d'un thalle végétatif, zone de croissance active d'une part, hyphes âgées ayant terminé leur croissance d'autre part. Les essais réalisés avec des volumes de milieu variables tendant à montrer que l'âge d'apparition des bandes de maturité est indépendant des facteurs trophiques, et donc probablement l'expression d'une caractéristique

propre au thalle, cet âge serait donc déterminé par l'état physiologique du thalle dans son ensemble et non par ceux de ses parties.

Le thalle dicaryotique extérioriserait ainsi une évolution physiologique au cours de sa croissance et les bandes de maturité pourraient constituer un marqueur de la seconde étape de cette évolution. Cette interprétation est d'ailleurs cohérente avec le fait que ce thalle doit avoir atteint un stade de développement minimal pour que puissent se mettre en route les processus de la morphogénèse agrégée, qu'ils soient basidiocarpiques ou non (rhizomorphes d'Armillaire, par exemple). Sur la base du marqueur constitué par les bandes de maturité, le mycélium homocaryotique, pour sa part, ne manifesterait pas cette évolution, et n'aborde généralement pas les processus agrégatifs; on peut penser que les quelques souches homocaryotiques qui le font, 905 par exemple, entament ces processus sans avoir atteint la seconde étape de leur évolution physiologique, ce qui pourrait alors conduire à l'avortement systématique des primordiums.

Le départ de la morphogénèse agrégée basidiocarpique, chez un thalle dicaryotique de *P. eryngii* extériorisant les bandes de maturité, est accompagné d'un retour à l'expression des bandes précoces; cet état «juvénile» persiste au cours de l'édification du stipe et au début de celle du piléus mais, au cours de la croissance marginale du piléus, les bandes de maturité réapparaissent. Toutefois, elles ne réapparaissent qu'au niveau de la marge, c'est-à-dire dans les tissus qui différencient l'hyménophore; les hyphes du stipe et du centre du piléus, qui n'assurent qu'un rôle de transit entre le thalle végétatif et la marge piléique, semblent rester bloqués au stade des bandes précoces, ce qui n'est peut-être pas sans rapport avec une aptitude qu'elles sont seules à extérioriser : la possibilité d'une croissance intercalaire.

Ce schéma proposé sur la base du marqueur A.D.H. d'une évolution physiologique (ou d'une «maturation») du thalle végétatif ou agrégé du *P. eryngii* est parfaitement compatible avec le fait que la croissance marginale du basidiocarpe soit ici finie (et non indéfinie comme elle peut l'être chez des Aphyllophorales). Enfin, les évolutions superposables du thalle végétatif d'une part, et de l'organe basidiocarpique d'autre part, incitent à penser que le développement du dicaryon ne représente pas un processus continu évoluant du stade végétatif au stade agrégé, puis à la différenciation hyménophorique, mais qu'on aurait en réalité deux cycles successifs : un cycle végétatif diffus à deux stades (bandes précoces et bandes de maturité), puis un cycle agrégé, également à deux stades (bandes précoces et bandes de maturité).

Il faudrait préciser les modalités du passage du système homocaryotique, ou précoce, au système de maturité, mais nos résultats suggèrent déjà un point important : la modification dans le temps des spectres A.D.H. semble constituer un marqueur de l'état du thalle dicaryotique et, sur la base de ce marqueur, on pourrait alors distinguer deux types de cycles homologues : un cycle végétatif à mycélium diffus et un cycle agrégé.

En définitive, si notre hypothèse de départ, qui postulait une activité A.D.H. au cours de la seule phase agrégée, s'avère inexacte, le mode d'expression de cette activité n'apparaît pas sans lien avec l'induction à l'agrégation.

BIBLIOGRAPHIE

- AINSWORTH G.C. and SUSSMAN A.S., 1966 — *The fungi*. N.Y & London, Academic press, II : 805 p.
- BALOUNGA P., 1984 — Étude de l'activité alcool déshydrogénase chez les Pleurotes des Ombellifères. Thèse 3ème cycle, Paris 6, 82 p.
- BOISSELIER-DUBAYLE M.C., 1981 — Étude du polymorphisme enzymatique chez les Pleurotes des Ombellifères. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci., Sér. III*, 292 : 1221-1226.
- CAILLEUX R. et DIOP A., 1976 — Recherches préliminaires sur la fructification en culture du *Pleurotus eryngii* (Fr. ex D.C.) Quélet. *Rev. Mycol.* 40 : 365-388.
- CAILLEUX R. et DIOP A., 1978 — La fructification du *Pleurotus eryngii* en conditions de culture non stériles et ses incidences pratiques. *Rev. Mycol.* 42 : 1-11.
- CAILLEUX R., DIOP A., SLEZEC A.M. et JOLY P., 1980 — Variabilité de la fructification du *Pleurotus eryngii* en culture. *Cryptogamie, Mycol.* 1 : 119-138.
- CAILLEUX R., DIOP A., et JOLY P., 1981 — Relations d'interfertilité entre quelques représentants des Pleurotes des Ombellifères. *Bull. Soc. Mycol. France* 97 : 97-124.
- DAVID J., 1977 — Signification d'un polymorphisme enzymatique : la déshydrogénase alcoolique chez *Drosophila melanogaster*. *Ann. Biol.* 16 : 451-472.
- DAVID J., 1978 — Comment à partir d'un gène structural défini on aboutit à une variabilité continue. I - Du génotype aux phénotypes. *La Recherche* 9 : 482-483.
- EBISUSAKI K. and BARRON E.S.G., 1957 — Yeast alcohol dehydrogenase. *Arch. Biochem. Biophys.* 69 : 555-564.
- ELTAYEB Y. and BERRY D.R., 1977 — Requirement for ethanol during the induction of alcohol dehydrogenase activity (ADHI) in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiol. Lett.* 2 : 57-60.
- ELTAYEB Y. and BERRY D.R., 1982 — Studies on levels of isozymes of alcohol dehydrogenase during growth and sporulation of *Saccharomyces cerevisiae*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 79 : 247-251.
- FOWLER F.W., BALL A.T.S. and GRIFFITHS D.E., 1972 — Control of alcohol dehydrogenase synthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Canad. J. Biochem.* 50 : 35-43.
- FREELING M., 1973 — Simultaneously induction by anaerobiosis or 2,4D of multiple enzymes specified by two unlinked genes : differential Adh 1 - Adh 2 expression in maize. *Molec. Genet.* 127 : 215-227.
- GOTTLIEB L.D., 1974 — Gene duplication and fixed heterozygosity for ADH in the diploid plant *Clarkia franciscana*. *Proc. Natl. Acad. U.S.A.* 71 : 1816-1818.
- GRELL E.H. & al., 1965 — Alcohol dehydrogenase in *Drosophila melanogaster* : isozymes and genetic variants. *Science* 149 : 80-82.
- HART G.E., 1969 — Genetic control of alcohol dehydrogenase isozymes in *Triticum*. *Biochem. Genet.* 3 : 617-625.
- JOHNSON F.M. and DENNISTON C., 1974 — Genetic variation of alcohol dehydrogenases of *Drosophila melanogaster* : frequency changes associated with heat and cold shock. *Proc. Natl. Acad. U.S.A.* 71 : 1783-1784.
- LEBLOVA S., ZIMAKOVA I., BARTHOVA J. and EHLICHOVA D., 1971 — On plant alcohol dehydrogenases. *Biol. Pl.* 13 : 33-42.
- LUSTORF U. and MEGNET R., 1968 — Multiple forms of alcohol dehydrogenase in *Saccharomyces cerevisiae*. *Arch. Biochem. Biophys.* 126 : 933-944.

- MACAYA-LIZANO A.V., 1975 — *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Quélet, formes et espèces affines. Comportement cultural et systématique. *Rev. Mycol.* 1974-1975 (paru 1975), 39 : 1-43.
- ODDOUX L., 1955 — Recherches sur les mycéliums secondaires des Homobasidiés en culture pure. Morphologie, cytologie, exigence alimentaire. Thèse Doct. État, Lyon, 346 p.
- RACKER E., 1950 — Crystalline ADH from baker's yeast. *J. Biol. Chem.* 184 : 313-319.
- SCANDALIOS J.G., 1967 — Genetic control of alcohol dehydrogenase isozymes in maize. *Biochem. Genet.* 1 : 1-8.
- SCHIMPFFESSEL L., 1968 — Présence et régulation de la synthèse de deux alcools déshydrogénases chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochim. Biophys. Acta* 151 : 317-329.
- SCHWARTZ D. and ENDO T., 1966 — Alcohol dehydrogenase polymorphism in maize - simple and compound loci. *Genetics* 53 : 709-715.
- SLEZEC A.M., 1978 — Étude comparée de l'action de quelques sources d'azote sur la croissance du mycélium homocaryotique et dicaryotique du *Pleurotus eryngii* D.C. ex Fr. D.E.A. Physiologie végétale, Paris 7, 20 p.
- SLEZEC A.M., 1981 — A propos de deux types d'anomalies obtenues chez *Pleurotus eryngii* (D.C. ex Fr.) Quélet, en culture. *Cryptogamie, Mycol.* 2 : 245-255.
- TURIAN G., 1975 — Differentiation in *Allomyces* and *Neurospora*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 64 : 367-380.
- URSPRUNG H. & al., 1970 — Ontogeny and tissue distribution of alcohol dehydrogenase in *Drosophila melanogaster*. *Wilhelm Roux Archiv.* 164 : 201-208.
- WILLIAMSON V.M., BENNETZEN J., YOUNG E.T., NASMYTH K. & al., 1980 — Isolation of the structural gene for alcohol dehydrogenase by genetic complementation in yeast. *Nature (London)* 283 : 213-216.
- WILLS C., FEVERMAN M., KRATOFIL P. and MARTIN T., 1980 — Regulation of ■■ apparently constitutive isozyme of alcohol dehydrogenase. Tenth international conference of Yeast genetics and molecular biology, Louvain la Neuve. Abstract : 69.